# Especie nueva de sapo del género *Bufo* (Anura: Bufonidae) de la Península de Zapata, Cuba

## Luis V. MORENO y Vilma RIVALTA

Instituto de Ecología y Sistemática, carretera de Varona km 3.5, Capdevilla, Boyeros, AP 80100, Ciudad de La Habana, Cuba vrivalta@ecologia.cu; zoologia.ies@ama.cu

ABSTRACT. A new species of the genus *Bufo* is described from Zapata swamp, Matanzas province, Cuba. It is most closely related to the Cuban species *B. peltocephalus* and *B. fustiger*, but with different color pattern and morphological characters. It occurs sympatrically with *B. peltocephalus*.

Key words: Anura, Bufonidae, Bufo peltocephalus group, new species, Cuba

#### INTRODUCCIÓN

El género *Bufo* Laurenti, 1768, en Las Antillas está constituido por *B. cataulaciceps* Schwartz, 1959, *B. empusus* (Cope, 1862), *B. fustiger* Schwartz, 1960, *B. gundlachi* Ruibal, 1959, *B. longinasus* Stejneger, 1905, *B. peltocephalus* Tschudi, 1838, y *B. taladai* Schwartz, 1960, en Cuba; *B. fluviaticus* Schwartz, 1972, *B. guentheri* Cochran, 1941 y *B. fractus* Schwartz, 1972, en La Española y *B. lemur* Cope, 1868, en Puerto Rico e Islas Vírgenes (Powell *et al.*, 1996).

La Ciénaga de Zapata, situada en el sur de la provincia de Matanzas, es el humedal de mayor extensión e importancia de Cuba y del Caribe insular. En su parte terrestre existen hasta 16 formaciones vegetales, algunas de las cuales se encuentran en la parte seca del territorio y otras en las partes inundadas, ríos y canales. En la parte seca predominan el bosque semideciduo, el bosque de ciénaga y el herbazal de ciénaga (Amorín Ponce *et al.*, 2003). Fue aprobada como Reserva de la Biosfera en el 2000 (CNAP, 2002).

Garrido (1980) reconoció la presencia de siete anfibios en la Ciénaga de Zapata. En la actualidad se registran 14 especies de anfibios, de las cuales 11 son endémicas de Cuba (Rodríguez y Rivalta, 2003; Rodríguez y Alonso, 2004; Díaz y Abreu, 2005). En este trabajo se describe un taxón nuevo, y se discuten los datos morfológicos y genéticos bioquímicos que justifican tal decisión.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Los caracteres morfométricos utilizados en la descripción y las siglas que los identifican en el texto se relacionan a continuación: longitud hocico-cloaca (LHC), longitud de la cabeza del hocico al borde posterior del tímpano (LC), anchura máxima de la cabeza (AC), longitud hocico-borde de la órbita (LHO), diámetro de la órbita (DO), diámetro del tímpano en su mayor longitud (DT), distancia interorbital (DIO), longitud de la glándula parotoidea (LGP), distancia interparotoideas tomada desde los extremos más cercanos de su parte superior (DIP), longitud del fémur (LF) y longitud de la tibia (LT). Se calcularon los cocientes de LC y AC entre LHC x 100. Todas las medidas se ofrecen en milímetros y se tomaron con calibrador milimétrico de 0.1 mm de precisión. Las medias de

las variables métricas de los machos y las hembras de la nueva especie se compararon mediante la prueba t de Student. Las comparaciones entre las tres especies se realizaron mediante ANOVA de clasificación simple. Los ejemplares examinados están depositados en el Instituto de Ecología y Sistemática, Ciudad de La Habana, Cuba; la sigla que los identifica es CZACC.

Los ejemplares utilizados para la electroforesis de proteínas proceden de un trabajo anterior (Rivalta, 1999) en el que se analizaron 186 ejemplares provenientes de diversas localidades del país. Los extractos de tejidos se analizaron por el método de electroforesis horizontal en gel de almidón, según la técnica descrita por Smithies (1955).

Se emplearon tres sistemas de tampones para la preparación electroforética de cinco enzimas y las proteínas totales (Ridgway *et al.*, 1970; Selander *et al.*, 1971; Clayton y Tretiak, 1972). La tinción de las enzimas siguió el método de Shaw y Prasad (1970) y Harris y Hopkinson (1976). La detección de las proteínas totales del músculo se realizó utilizando azul de Coomasie G al 1% en ácido tricloroacético al 12%.

Para el análisis de las relaciones genéticas entre poblaciones y especies se calcularon las distancias genéticas, según el índice de Nei (1972). A partir de estas distancias genéticas se construyó una matriz, la cual sirvió de base para realizar un análisis de agrupamiento siguiendo el algoritmo UPGMA (Sneath y Sokal, 1973). Estos resultados se presentaron de forma gráfica en un dendrograma, utilizando para ello el programa NTSYS (1993).

SISTEMÁTICA Familia Bufonidae Bufo florentinoi sp. nov. (Figs. 1a-c)

**Diagnosis.** Especie perteneciente al grupo *Bufo peltocephalus*, de gran tamaño (LHC máxima de 133.0 mm en hembras; 112.0 mm en machos). Se distingue de los otros sapos cubanos por presentar un patrón dorsal gris con numerosas manchas irregulares negras, coloración gris uniforme en la cabeza; glándulas parotoideas poco separadas entre sí (entre 9.0 y 19.0 mm). La distancia interorbital es grande (de 17.0 a 24.5 mm). El dorso está cubierto con tubérculos numerosos en el primer tercio del cuerpo. La unión de las crestas supraorbitales y las cantales está interrumpida en la porción anterior a las órbitas, con una muesca que, a veces está ausente en uno de los lados. El patrón electroforético presenta un alelo diagnóstico para el locus PT-B.

**Diagnosis.** (in English). A large species belonging to *Bufo peltocephalus* group (maximum svl = 133.0 mm in female; 112.0 mm in male). It differs from other Cuban toads in its grey with many irregular black spots dorsum, grey head; parotoid glands with a short distance between them (9.0-19.0 mm). Large inteorbital distance (17.0-24.5 mm). The anterior third part of the dorsum is heavily tuberculate. In the joint between supraorbital and canthal crests there is a notch that often is absent at one of the sides of the head. The electrophoresis pattern is represented by a diagnostic allele for the PT-B locus.

**Descripción**. Ambos sexos. Cabeza fuertemente osificada y redondeada en vista dorsal. Parte anterior de la cabeza. Las crestas craneales son bajas y lisas, al igual que la



Figs. 1 a y b. Vista lateral y dorsal de la hembra de *Bufo florentinoi* sp. nov., respectivamente. c. Comparación de la forma de la cabeza en las hembras de *Bufo florentinoi* sp. nov. (izquierda), *B. fustiger* (centro) y *Bufo peltocephalus* (derecha). Fotos de Julio Larramendi.

superficie de la cabeza y no presentan tubérculos queratinizados ni espinas. Los machos presentan una interrupción (muesca) entre las crestas supraorbitales y las cantales, en la porción anterior a las órbitas, mientras que las hembras las tienen en un solo lado en el 50% de los ejemplares. El espacio interorbital entre las crestas supraorbitales es cóncavo y ancho (Tabla 1). Crestas supratimpánicas no paralelas en vista dorsal (Fig. 1b). El diámetro de la órbita es del doble de tamaño que el diámetro del tímpano. Párpados con tubérculos. Glándulas parotoideas en posición diagonal con relación al plano sagital, gruesas y bien marcadas, cubiertas por tubérculos espinosos queratinizados. La superficie ventral es granular; la garganta, tórax, extremidades anteriores y posteriores están cubiertas con tubérculos y espinas.

Dedos de las extremidades anteriores sin membrana interdigital, cuyo orden decreciente de longitud es 3>4>5>2>1. Tubérculo palmar redondeado y plano. Tubérculos subarticulares pequeños, dobles. Dedos de las extremidades posteriores con membrana interdigital apenas visible, entre los dedos 2-3 y 3-4, cuyo orden decreciente de longitud es 4>3>5>2>1. Membrana marginal ausente o poco visible. Tubérculo metatarsal interno pequeño; el externo, oval, poco notable.

Para 10 de los 13 caracteres comparados (LHC, LC, AC, LGP, DIO, LHO, LF, LT, DO y DT), los promedios de las hembras fueron significativamente mayores que en los machos; los promedios de LNO, DIN y DIP, no mostraron diferencias significativas entre sexos (Tabla 1).

Coloración en vida. Dorso y extremidades grises con numerosas manchas irregulares negras, con apariencia de vermiculaciones grises y negras dispuestas asimétricamente. La coloración tiene un patrón poco variable y sólo en el ejemplar CZACC 14.3092 las manchas irregulares negras son más amplias, tanto en el dorso como en las extremidades. Los miembros anteriores y posteriores presentan bandas irregulares negras sobre el fondo gris, los dedos son grises. La superficie dorsal de la cabeza es gris uniforme, con los labiales de color naranja muy claro, la ventral es gris claro en la garganta. El tórax es gris y el vientre es más claro, pero se hace gris oscuro en la región de las ingles. Párpados grises; iris verde oscuro. El juvenil CZACC 14.11605 tiene una LHC de 84.0 mm y otro colectado en junio de 2004, midió 70.0 mm de LHC; ambos presentan el patrón de color típico del adulto. Los machos presentan una mancha pequeña gris oscura en la superficie dorsal del primer dígito de los miembros anteriores.

Coloración en alcohol. En todos los ejemplares se mantiene el patrón de color en vida con excepción del ejemplar CZACC 14.3094, en el que el color del cuerpo es amarillento y la cabeza ocre.

Electroforesis de proteínas: De los 12 loci estudiados, seis presentan un solo alelo (Aspartato aminotransferasa, AAT-A; Isocitrato deshidrogenasa, IDH-A, IDH-B; Lactato deshidrogenasa, LDH-A; Malato deshidrogenasa, MDH-B y Proteínas totales, PT-A). Por esto, las frecuencias génicas se describen solo para los loci Fosfoglucomutasa (PGM), AAT-B; LDH-B, MDH-A, PT-C y PT-B (Tabla 2). *B. florentinoi* sp. nov. se caracteriza por presentar una variante alélica lenta para LDH-B (Tabla 2) y una variante lenta exclusiva de esta población para PT-B (Tabla 2).

Comparación. Bufo florentinoi sp. nov. no requiere comparación con las cuatro especies más pequeñas: Bufo cataulaciceps, B. longinasus, B. gundlachi y B. empusus; tampoco con B. taladai, que entre otras características tiene un reborde típico en el maxilar y no posee interrupción entre las crestas supraorbitales y las cantales. Se diferencia de B. peltocephalus y de B. fustiger por su coloración dorsal gris con numerosas manchas irregulares negras, al contrario de B. peltocephalus (vermiculaciones estrechas amarillas sobre dorso de color castaño caoba) y de B. fustiger (manchas castaño claro difusas sobre fondo castaño oliváceo). La comparación entre los machos de las tres especies resultó estadísticamente significativa para las variables LHC, LC, AC, DIO, DIP, LF y LT y para los dos índices (Tabla 1), lo que indica que Bufo florentinoi sp. nov. es más pequeña que las otras dos especies y su cabeza más corta y estrecha (Fig. 1c) Los tubérculos dorsales del primer tercio del cuerpo son numerosos, altos y redondeados, mientras que en B fustiger son más pequeños y granulares; en B. peltocephalus son heterogéneos y uniformemente distribuidos. Adicionalmente, las crestas supratimpánicas en B. florentinoi sp. nov. no son paralelas en vista dorsal, mientras que en B. fustigery B. peltocephalus son paralelas (Fig. 1c).

En la Tabla 2 se observa que la variante alélica lenta de la LDH-B aparece con frecuencias bajas en *B. fustiger* y en algunas poblaciones de *B. peltocephalus*. *B. fustiger* tiene una variante rápida exclusiva para el locus PT-C. Los ejemplares de la especie nueva se

Tabla 1. Medidas (en mm) y cocientes de dos de ellas (LC y AC) entre la longitud hocico-cloaca de tres especies del género Buj6. Se muestra el holótipo de Bufo florentinoi sp.nov., la comparación entre sexos y con los machos de B. fustiger y B. peltocephalus. Entre paréntesis aparece el número de ejemplares; se da la media 🛨 la desviación estándar y entre paréntesis el valor mínimo y el máximo; t, prueba de Student entre sexos de B. florentinoi sp. nov.; p, probabilidad de error; F, valor de F calculado por ANOVA de clasificación simple para los machos de las tres especies.

		Bufo flore	Bufo florentinoi sp. nov.		B. fustiger E	B. peltocephalus		
Variables	holótipo	Hembras (9)	<i>t</i> b	Machos (14)	Machos (13)	Machos (7)	Ц	Ь
Longitud hocico-cloaca (LHC)	126.6	$121.7 \pm 2.1$	8.90 <0,001	$102.7 \pm 1.2$	$117.8 \pm 1.3$	$114.1 \pm 1.4$	45.14	<0,001
		(112.0-133.0)		(97.0-112.0)	(110.0-125.0)	(108.0-119.0)		
Longitud de la cabeza (LC)	40.0	$39.1 \pm 0.6$	10.66 <0,001	$32.4 \pm 0.3$	$40.0 \pm 0.7$	$36.5 \pm 0.6$	50.71	<0,001
		(36.5-41.7)		(31.0-34.5)	(36.0-45.0)	(35.0-39.0)		
Anchura de la cabeza (AC)	48.0	$47.3 \pm 0.7$	9.78 <0,001	$38.9 \pm 0.5$	$49.0 \pm 1.0$	$46.4 \pm 0.7$	51.24	<0,001
		(45.0-52.0)		(36.0-43.0)	(44.0-56.0)	(44.5-49.0)		
Longitud de la g. parotoidea (LGP)	29.1	$26.1 \pm 0.7$	4.62 <0,001	$21.9 \pm 0.6$	$21.1 \pm 0.6$	$20.6 \pm 0.6$	0.89	n.s.
		(23.0-29.1)		(17.0-25.0)	(17.0-25.0)	(17.5-22.0)		
Distancia interorbital (DIO)	23.3	$22.3 \pm 0.4$	7.14 <0,001	$18.7 \pm 0.3$	$18.5 \pm 0.3$	$16.9 \pm 0.3$	7.57	<0,001
		(20.0-24.5)		(17.0-21.0)	(17.0-20.0)	(16.0-18.0)		
Longitud hocico-ojo (LHO)	16.9	$16.6 \pm 0.3$	3.93 <0,001	$14.0 \pm 0.5$	$15.0 \pm 0.3$	$13.5 \pm 0.3$	3.04	n.s.
		(15.1-18.0)		(12.0-19.5)	(13.0-17.0)	(12.5-15.0)		
Longitud del fémur (LF)	44.0	$43.4 \pm 0.9$	6.38 <0,001	$34.9 \pm 0.9$	$43.8 \pm 0.9$	$40.8 \pm 1.3$	24.77	<0,001
		(39.0-47.0)		(29.0-43.5)	(38.0-48.0)	(39.0-45.0)		
Longitud de la tibia (LT)	45.0	$43.4 \pm 1.0$	9.00 <0,001	$34.7 \pm 0.4$	$42.7 \pm 0.2$	$43.0 \pm 1.3$	43.82	<0,001
		(38.0-47.5)		(32.5-38.5)	(39.0-49.0)	(37.0-47.0)		
Diámetro del ojo (DO)	13.0	$13.2 \pm 0.4$	5.07 <0,001	$10.7 \pm 0.3$	$11.8 \pm 0.7$	$13.2 \pm 0.5$	5.19	n.s.
		(11.5-15.0)		(9.0-12.0)	(7.0-14.0)	(12.0-15.0)		
Diámetro del tímpano (DT)	0.9	$6.7 \pm 0.3$	2.87 <0,001	$5.9 \pm 0.2$	$5.7 \pm 0.3$	$5.9 \pm 0.4$	0.14	n.s.
		(5.5-8.0)		(5.0-7.0)	(4.0-8.0)	(4.0-7.0)		
Distancia interparotoideas (DIP)	19.0	$13.6 \pm 1.0$	2.78 n.s.	$11.0 \pm 0.4$	$21.1 \pm 0.7$	$23.0 \pm 0.8$	104.43	<0,001
		(10.5-19.0)		(9.0-14.0)	(18.0-26.0)	(21.0-27.0)		
LC/LHC X 100	31.6	$32.0 \pm 0.4$	0.81 n.s.	$31.6 \pm 0.3$	$33.9 \pm 0.4$	$32.0 \pm 0.2$	13.14	<0,001
		(30.4-34.5)		(29.5-33.0)	(31.7-36.7)	(30.7-32.8)		
AC/LHC X 100	37.9	$39.0 \pm 0.5$	1.51 n.s.	$37.9 \pm 0.46$	$41.6 \pm 0.7$	$42.3 \pm 1.0$	13.41	<0,001
		(37.2-41.7)		(35.6-41.2)	(36.7-45.0)	(39.0-43.5)		

Tabla 2. Frecuencias génicas en 13 poblaciones de sapos del género Bufo. Localidades: Soroa, SR; Viñales, VI; Sabinal, SA; Cayo Coco, CC; Punta del Este, PE; Cocodrilo, CO; Playa Girón, PG; Playa Larga, PL; Soplillar, SP; Los Sábalos, LS; Cienfuegos, CF; Buey Arriba, BA; Gironcito, GI. Entre paréntesis, el número de ejemplares.

		B. fustiger	tiger				В.	B. peltocephalus	balus					B. florentinoi sp.
														nov.
Locus	Alelos	SR	VI	$_{\mathrm{SA}}$	CC	ÞΕ	CO	ЬG	$^{\mathrm{br}}$	SP	LS	$_{ m CF}$	$_{\mathrm{BA}}$	GI
		(28)	ව	(17)	(5)	(15)	(14)	0	0	(12)	(10)	(27)	(20)	(15)
$_{ m DGM}$	я	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00
	p	0.04	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.07	0.00
	C	0.88	0.94	1.00	0.00	0.47	0.61	1.00	1.00	0.87	06.0	0.97	0.87	1.00
	Р	0.07	90.0	0.00	0.00	0.37	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00
	е	0.02	0.00	0.00	0.00	0.17	0.36	0.00	0.00	0.13	0.05	0.00	0.00	0.00
AAT-B	В	0.07	0.00	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.20
	Р	0.84	0.94	0.85	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.95	06.0	0.80
	C	0.09	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	0.00
LDH-B	В	0.91	0.89	1.00	1.00	0.70	0.71	1.00	0.86	0.79	06.0	0.92	1.00	0.00
	Р	0.09	0.11	0.00	0.00	0.30	0.29	0.00	0.14	0.21	0.10	0.07	0.00	1.00
MDH-A	В	0.89	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.98	0.97	0.97
	Р	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.03
PT-C	В	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	p	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PT-B	В	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00
	Р	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

caracterizan por presentar una variante alélica intermedia en el locus PGM, el alelo c, aunque esta variante aparece también, con frecuencias altas, en *B. fustigery B. peltocephalus. B. florentinoi* sp. nov. muestra una variante alélica más rápida en AAT-B, con una frecuencia baja, presente también en algunas poblaciones de *B. fustiger y B. peltocephalus.* En los ejemplares de la especie nueva aparece una variante alélica rápida de la MDH-A con alta frecuencia, algo similar ocurre también en *B. fustiger y B. peltocephalus.* Sin embargo, *B. florentinoi* sp. n. differe de *B. peltocephalus y B. fustiger*, al presentar un alelo fijado para el locus LDH-B y un alelo único para el locus PT-B, con carácter diagnóstico (Tabla 2).

**Distancia genética.** En la Fig. 2 se muestra el fenograma basado en las distancias genéticas (D) de Nei (1972), donde el coeficiente de correlación cofenética es de r=0.97, lo que refleja fielmente las relaciones entre los grupos formados. Se observa que la principal dicotomía separa claramente a *B. florentinoi* sp. n. del resto de las unidades taxonómicas. La segunda dicotomía principal permite establecer dos agrupamientos definidos: el primero formado por las dos poblaciones de *B. fustiger* (Soroa y Viñales) y el segundo grupo donde quedan las poblaciones de *B. peltocephalus*. *B. fustiger* y *B. peltocephalus* difieren con un valor promedio de D=0.098, mientras que *B. florentinoi* sp. nov. difiere de ambas con D=0.197.

**Tipos. Holótipo**. CUBA, CZACC. 14.3085, hembra adulta, colectada durante la noche en Gironcito, Playa Girón, Península de Zapata, provincia Matanzas, 224' 9.62" N y 811'10.81" W, cols. L. V. Moreno, A. Daniel, J. Novo y A. Hernández, 10.x.1990. **Parátipos**. CZACC 14.3086-87, 14.3089-94 hembras adultas; CZACC 14.11605, hembra juvenil; CZACC.14.3095-3103, 14.11601-04, 14.11606 machos adultos de igual localidad que el holótipo y los mismos colectores, 5-10.x.1990.

**Etimología**. Esta especie ha sido nombrada en reconocimiento póstumo a Florentino García Montaña, notable ornitólogo cubano, inspirador de trabajos herpetológicos.

**Distribución.** B. florentinoi sp. nov. se conoce solo de las inmediaciones de la localidad tipo.

Historia natural. Se han observado pocos individuos de *Bufo florentinoi* sp. nov., lo cual no permite tener una idea de la abundancia de esta especie, que vive en el bosque semideciduo esclerófilo subcostero sobre las rocas cársicas ("diente de perro") (R. Oviedo, com. pers.). Aparentemente, durante las horas del día se entierra en las oquedades del carso, las raíces de las plantas que crecen en la zona o dentro de las pequeñas casimbas que acumulan temporalmente agua. Todos los animales han sido capturados durante la noche. Aunque se conoce la capacidad que tienen los bufónidos de aumentar de volumen cuando se les manipula (Valdés y Ruiz, 1979; Rivalta, 2003) es de destacar que *B. florentinoi* sp. nov. se llena de aire instantáneamente al tocar su piel, como medida de protección frente a una situación de peligro. Vive en simpatría con *B. peltocephalus* en la localidad tipo, donde los individuos de ambas especies se recolectaron a pocos metros de distancia. *B. peltocephalus* habita áreas secas cubiertas de arbustos desde Playa Larga, provincia de Matanzas, hasta Maisí, provincia de Guantánamo, por la costa sur (Valdés, 1988; Schwartz y Henderson, 1991). También, utiliza las oquedades del "diente de perro" como refugio diurno (Rivalta *et al.*, 2004).

**Material examinado.** Morfología: *B. fustiger* (13 ejemplares): San Vicente, Viñales, Pinar del Río: CZACC 14.5585, 14.5800, 14.5881-84, 14.5929, 14.5932, 14.5986, 14.11430,

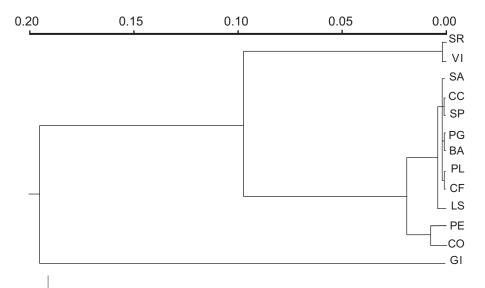


Fig. 2. Relaciones genéticas entre especies, calculadas según Nei (1972). Localidades: Soroa, SR; Viñales, VI; Cayo Sabinal, SA; Cayo Coco, CC; Punta del Este, PE; Cocodrilo, CO; Playa Girón, PG; Playa Larga, PL; Soplillar, SP; Los Sábalos, LS; Cienfuegos, CF; Buey Arriba, BA; Gironcito, GI.

14.11431; Terraplén Cárdenas-Varadero, Matanzas: 14.11425-26; *B. peltocephalus* (134 ejemplares): Jardín Botánico, Cienfuegos: CZACC 14.5340-41, 14.11542-43; Pinares de Mayarí, Holguín: 14.5306, 14.5309, 14.5311. Electroforesis: *B. peltocephalus*, Archipiélago de Sabana-Camagüey: Cayo Sabinal (N=17), Cayo Coco (N=5); Isla de la Juventud: Punta del Este (N=15), Cocodrilo (N=14); Ciénaga de Zapata: Playa Girón (N=7), Soplillar (N=12), Los Sábalos (N=10), Playa Larga (N=7); Cienfuegos (N=27); provincia de Granma: Buey Arriba (N=20). Para *B. fustiger* (37 ejemplares), Pinar del Río: Soroa (N=28); Viñales (N=9). Para *Bufo florentinoi* sp. nov. (15 ejemplares) Ciénaga de Zapata: Playa Girón.

Agradecimientos.- A Ángel Daniel Álvarez, Arturo Hernández, Julio Novo, Miguel Osorio, Lourdes Rodríguez Schettino, Adela Torres, Mercedes Martínez, Michel Domínguez, Julio Guillermo Calvear, Jesús Casí, Julio Larramendi y Norberto Jiménez por la participación en los viajes de colecta; a L. Rodríguez Schettino, Michel Domínguez, L. de Armas, O. H. Garrido y L. M Díaz por la crítica lectura del manuscrito y sus valiosas recomendaciones. Las recomendaciones de un revisor anónimo proporcionaron mejoras al original. A Julio Larramendi por su excelente fotografía. Una parte del trabajo de campo fue financiado por el Grant No. 6981--01 de la National

Geographic Society a L. Rodríguez Schettino.

#### REFERENCIAS

- Amorín, J. A.; L. Bacallao ; O. Martínez; T. Piñeiro y G. Forneris. 2003. La Ciénaga de Zapata. Historia y naturaleza. Ed. Academia, La Habana. 160 pp.
- Clayton, J. W. y D. N. Tretiak. 1972. Amine citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. J. Fish. Res. Board Can. 29:1169-1172.
- CNAP. 2002. Sistema Nacional de Áreas Protegidas. Cuba. Plan 2003-2008. Escandón Impresores, Sevilla, España, 222 pp.
- Díaz, L. M. y E. Abreu. 2005. Cuba: Zapata. Rapid biological inventories. The Field Museum, Chicago. Report 07: 50-53.
- Garrido, O. H. 1980. Los vertebrados terrestres de la Península de Zapata. Poeyana 203:1-49.
- Harris, H. y D. A. Hopkinson. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. North-Holland, Amsterdam.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist 106:283-292.
- Powell, R.; R. W. Henderson; K. Adler y H. A. Dundee. 1996. An annotated checklist of West Indian amphibians and reptiles. *In* Contributions to West Indian Herpetology: A tribute to Albert Schwartz (R. Powell y R. W. Henderson, eds.). Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca (Nueva York). Contributions to Herpetology 12: 51-93.
- Ridgway, G. J.; S. W. Sherburne y R. D. Lewis. 1970. Polymorphism in the esterases of Atlantic herring. Trans. Amer. Fish. Soc. 99:147-151.
- Rivalta, V. 1999. "Variabilidad genética de algunas especies cubanas del género *Bufo* (Anura: Bufonidae)", [inédito], Tesis de Maestría, Instituto de Ecología y Sistemática, 66 pp.
- Rivalta, V. 2003. Misteriosos pobladores de la naturaleza. En anfibios y reptiles de Cuba. (L. Rodríguez Schettino, ed.). UPC Print Vaasa, Finlandia, pp. 56-63.
- Rivalta, V.; L. Rodríguez Schettino; A. Torres; M. Martínez y J. Larramendi. 2004. *Bufo peltocephalus* (Cuban toad). Diurnal retreat. Herpetol. Rev., 35(2):157.
- Rodríguez, A. y R. Alonso. 2004. Geographic distribution. *Eleutherodactylus dimidiatus* (Ranita de antifaz). Herpetol. Rev., 35(1):77.
- Rodríguez Schettino, L. y V. Rivalta González. 2003. Lista de especies. En anfibios y reptiles de Cuba. (L. Rodríguez Schettino, ed.). UPC Print Vaasa, Finlandia, pp. 162-165.
- Schwartz, A. y R. W. Henderson. 1991. Amphibians and reptiles of the West Indies: Descriptions, distributions, and natural history. Univ. Florida Press, Gainesville, xvi + 720 pp.
- Selander, R. K.; M. H. Smith; S. Y. Yang; W. E. Johnson y J. B. Gentry. 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*). Studies in Genetics VI. Univ. Texas Pub., 7103:49-90.
- Shaw, C. R. y R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis for enzymes. A compilation of recipes. Biochem. Genet., 4:297-320.

- Smithies, O. 1955. Zone electrophoresis in starch gels: Group variations in the serum proteins of normal individuals. Biochem J., 51:629-641.
- Sneath, P. H. A. y R. R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy. W. H. Freeman, San Francisco, 573 pp.
- Valdés, A. 1988. Systematic comments on *Peltophryne peltocephala* (Anura: Bufonidae) in the Cuban Archipelago. Carib. J. Sci., 24(1-2):39-43.
- Valdés, A. y F. N. Ruiz. 1979. Manifestación del patrón conductual de aumento de volumen en bufónidos cubanos. Misc. Zool., 8:3-4.